

۱۱) تشخیص افتراقی

۱- ۱۱ - تشخیص افتراقی در بالغین به شرح زیر می باشد:

- سندرم گیلن باره ؛
- Myasthenia gravis ؛
- حوادث عروقی مغز (CVA) ؛
- مسمومیت شیمیایی و یا میکروبی (مانند مسمومیت با منواکسیدکربن یا قارچ سمی) ؛
- پولیومیلیت (۱۳ و ۹ و ۶)

۲- ۱۱ - تشخیص افتراقی در اطفال:

- تشخیص افتراقی در اطفال بشرح زیر می باشد:
- عفونت خون (sepsis)
- مننژیت
- عدم تعادل آب و الکترولیتها
- سندرم Reye
- میوپاتی مادرزادی
- Werding- Haffman disease
- *Leigh's disease
- گلین باره

۱۲) تشخیص آزمایشگاهی

- تشخیص اولیه بوتولیسم بایستی براساس علایم و نشانه های بالینی انجام گیرد و برای درمان نمی توان منتظر تأیید آزمایشگاهی شد.
 - تست های روتین آزمایشگاهی (CBC، الکترولیتها، آزمایش ادرار و ...) نمی توانند در تشخیص بیماری کمک کننده باشند.
 - آزمایش C.S.F (مایع مغزی نخاعی) معمولاً در بوتولیسم طبیعی بوده، اگر چه گاهی افزایش جزئی در میزان پروتئین آن دیده می شود.
 - تست تنسیلون Tensilon برای تشخیص افتراقی بوتولیسم از میاستنیا گراویس کمک کننده
- * یک بیماری نادر ارثی نور و متابولیک است که با دژ نراسیون سیستم اعصاب مرکزی مشخص می شود.

است، تست مثبت borderline نیز ممکن است در بوتولیسم مشاهده گردد.

- انجام سی تی اسکن و وجود MRI طبیعی برای رد CVA کمک می‌نماید.
- تأیید آزمایشگاهی بوتولیسم از طریق وجود توکسین در سرم، مدفوع، مواد غذایی، یا از طریق کشت کلستریدیوم بوتولینوم موجود در مدفوع، زخم و یا مواد غذایی صورت می‌گیرد.
- **بررسی آزمایشگاهی ممکن است ساعت‌ها یا روزها بطول انجامد. بنابراین تشخیص اولیه و درمان مناسب متناسب با شدت علائم بالینی از طریق معاینه فیزیکی و شرح حال دقیق بیمار بایستی انجام گیرد.** ^(۸ و ۹)

انجام الکترومیوگرافی (EMG) از عضلات مبتلا، به تشخیص بوتولیسم از Myasthenia gravis، سندرم گیلن‌باره و بیماری‌هایی که اغلب دارای علائم مشابه بوده کمک می‌نماید. چنانچه عضلات متعدد دچار ضعف شده باشند، نتایج مثبت ممکن است فقط از یک عضله بدست آید. هم چنین بدلیل تفاوت‌های موجود در انجام EMG و تفسیر آن، الکترومیوگرافی باید توسط اشخاص با تجربه انجام شده و تفسیر گردد تا قابل اطمینان باشد.

آزمایش سم‌شناسی از نظر سم موجود در نمونه‌های سرم به علاوه کشت نمونه‌های بافت‌های مرده یا آلوده به زخم یا مدفوع و بررسی اپیدمیولوژیک مواد غذایی مشکوک و یا هر دوی آنها، بهترین روش تأیید بوتولیسم می‌باشد. در بررسی به عمل آمده از ۳۰۹ بیمار با تشخیص بالینی بوتولیسم که از سال ۱۹۷۵ تا ۱۹۸۸ به CDC آمریکا گزارش گردیده بود، کشت مدفوع در ۵۵٪ موارد و از نظر وجود سم، ۳۹٪ در سرم خون و ۲۴٪ در نمونه‌های مدفوع مثبت گزارش شد که در ۶۵٪ بیماران حداقل یک آزمایش مثبت بوده است. جمع‌آوری نمونه‌های مدفوع و سرم در اوایل بیماری، احتمال بدست آوردن نتایج مثبت را افزایش می‌دهد. در هر حال این آزمایشات کمک‌کننده می‌باشند. گاهی در طغیان‌های وسیع درصد بسیار کمی از نمونه‌ها مثبت گزارش شده‌اند. به علاوه، نتایج آزمایشگاهی ممکن است از چند ساعت تا چند روز پس از دریافت نمونه گزارش نشود. تجویز آنتی‌توکسین تنها درمان ویژه موجود برای بوتولیسم محسوب شده و براساس شواهد، استفاده از آنتی‌توکسین تنها زمانی مفید و مؤثر واقع می‌شود که در همان ابتدای ظهور علائم اختلال عصبی تجویز گردد. از این رو برای تشخیص بیماری نمی‌توان منتظر نتایج آزمایشگاهی (بدلیل طولانی شدن از نظر زمانی) شد و درمان باید بر مبنای تاریخچه بیماری و یافته‌های بالینی صورت گیرد. ^(۶)

۱۳) توصیه‌های مربوط به رعایت احتیاطات لازم آزمایشگاهی

- برچسب خطر (خطر بیولوژیک) را بر روی درب‌ها بزنید تا از ورود افراد غیرآزمایشگاهی به آزمایشگاه جلوگیری شود.

- تمام کارکنان آزمایشگاه باید روپوش بپوشند و عینک ایمنی بزنند.
- هرگز نباید از پیپت دهانی استفاده شود، بلکه بدین منظور باید از پیپت مکانیکی استفاده نمود.
- از هود مخصوص برای انتقال مواد سمی باید استفاده کرد (به منظور جلوگیری از آسیب‌های بیولوژیکی).
- مواد سمی را در لوله‌هایی با درپوش ایمنی سانتریفیوژ کنید.
- تمام مواد سمی را شخصاً در اتوکلاو بگذارید و آنها را بلافاصله استریل نمایید.
- در آزمایشگاه و یا در اتاق حیوانات بعد از وقت اداری و یا در تعطیلات آخر هفته به تنهایی کار نکنید.
- داشتن یک قطره شستشوی چشمی و همچنین یک شیر آب پدال‌دار یا اتوماتیک جهت شستشوی دست‌ها ضروری است.
- خوردن و نوشیدن در آزمایشگاه ممنوع می‌باشد.
- در هم ریختگی و بی‌نظمی را در آزمایشگاه به حداقل برسانید و تمام وسایل و لوازم را در جای مناسب خود قرار بدهید.^(۱۹)

۱۴) جمع‌آوری نمونه‌ها

نمونه‌های مناسب جهت آزمایش توکسین و میکروارگانیزم کلستریدیوم بوتولینوم، در طغیان‌های ناشی از غذا شامل سرم، مدفوع، مواد استفراغی، محتویات معده و مواد غذایی مشکوک و در بوتولیسم ناشی از زخم، سرم، مواد ترشحات و بافت‌های مرده یا سواب گرفته شده از زخم بیماران و در بوتولیسم اطفال شامل نمونه‌های مدفوع و سرم می‌باشد. در برخی از موارد، آزمایش نمونه‌های محیطی از نظر کلستریدیوم بوتولینوم در تعیین منبع احتمالی بیماری کمک‌کننده است (به عنوان مثال در بوتولیسم اطفال).

تمام نمونه‌ها به استثناء سواب زخم، بایستی داخل یخچال نگهداری (نباید فریز شوند) و هر چه سریع‌تر پس از جمع‌آوری، آزمایش شوند. جهت جداسازی کلستریدیوم بوتولینوم، نمونه‌های زخم بایستی در محیط‌های انتقال غیرهوازی بدون نگهداری در یخچال (Without refrigeration) به آزمایشگاه ارسال شوند. هم‌چنین نمونه‌های غذا بایستی در ظروف اصلی‌شان یا در ظروف استریل نشکن به همراه برچسب مشخصات ارسال شوند. لازم به ذکر است ظروف خالی و باقی مانده‌های مواد غذایی مشکوک گاهی می‌توانند جهت آزمایش مورد استفاده قرار گیرند. در برچسب ظروف نمونه بایستی نام بیمار، تاریخ تهیه، تاریخ ارسال و داروهای مصرف شده نیز نوشته

شود. در بعضی از موارد جهت تأیید خنثی شدن توکسین، تعیین مقدار و مدت زمان باقی ماندن آنتی توکسین، در نمونه سرمی که بعد از درمان تهیه می شود لازم می باشد.^(۶) تأیید ارگانیسم، توکسین و نوع توکسین در ۷۵٪ موارد اتفاق می افتد. مواردی که زودتر شناسایی می گردند را به احتمال خیلی زیاد از طریق ارزیابی بیولوژیک و مواردی که دیرتر شناسایی می شوند را از طریق کشت مثبت ارگانیسم به طریق آزمایشگاهی می توان تشخیص داد. قابل ذکر است تأیید آزمایشگاهی توکسین از طریق ارزیابی بیولوژیک موش و تعیین نوع توکسین، از طریق خنثی سازی توکسین در موش انجام می گیرد.^(۲)

قبل از درمان با آنتی توکسین باید ۱۵-۱۰ میلی لیتر سرم، به همراه ۵۰-۲۵ گرم از مدفوع، نمونه گرفته و در صورت امکان ۵۰-۲۵ میلی لیتر از مایع محتویات معده را آسپیره نمود و هم چنین به همان مقدار از مواد غذایی مشکوک نیز بایستی جمع آوری و نمونه برداری نمود و در درجه حرارت یخچال نگهداری کرد. در بیماران مبتلا به یبوست، گاهی تنقیه آب نمک برای تهیه نمونه مدفوع مورد نیاز می باشد.^(۶)

در بوتولیسم ناشی از غذا، توکسین در ۳۹٪ نمونه های سرم، ۲۴٪ نمونه های مدفوع و ارگانیسم در ۵۵٪ نمونه های کشت شده یافت می شود و معمولاً کشت مدفوع از نمونه هایی که جهت کشف توکسین دیر تهیه شده اند (بیشتر از سه روز بعد از خوردن غذا) حساس تر است.^(۶) چنانچه بیمار در حال مصرف دارویی است که امکان تأثیر در نتیجه آزمایش توکسین یا کشت مدفوع را دارد، بایستی آزمایشگاه را در جریان قرار داد، بطور مثال داروهای آنتی کولین استراز خوراکی که جهت درمان بیماران مبتلا به میاستنیا گراویس، بکار می روند می توانند در بررسی توکسین بوتولینوم موش ها تأثیرگذار باشند.^(۶)

در بوتولیسم اطفال بدلیل اینکه در آزمایش سرم بیمار از نظر توکسین، بندرت نتیجه مثبت می شود، مدفوع و مایع تنقیه نمونه های انتخابی هستند. امکان تهیه کشت از منابع احتمالی کلستریدیوم مانند عسل، گرد و خاک نیز امکان پذیر است.^(۲) در بوتولیسم زخم، توکسین را می توان در نمونه های سرم و نمونه های کشت^(۲) و در بوتولیسم نوع بالغین ارگانیسم را می توان در کشت مدفوع، و توکسین را تا ۱۱۹ روز پس از شروع علائم بیماری در سرم بدست آورد.^(۲)

۱۵) ارسال نمونه ها

نمونه ها باید در ظروف غیرقابل نشت، بطور جداگانه بسته بندی و در درجه حرارت یخچال به آزمایشگاه ارسال گردند. هم چنین بر روی بسته باید "**برچسب مشخصات، فوریت پزشکی، خطر بیولوژیک و به محض دریافت در یخچال قرار داده شود**"، بطور

مشخص نوشته و با سریع‌ترین وسیله ممکن ارسال گردند. ظروف مقوایی برای تهیه نمونه‌های مدفوع مناسب نیستند. پیش از ارسال، آزمایشگاه باید به وسیله تلفن از زمان ارسال و نحوه ارسال نمونه‌ها مطلع گردد. در صورت پیش آمدن تأخیر چند روزه غیرقابل اجتناب در ارسال، نمونه‌ها (سرم یا مدفوع) باید پس از فریز شدن در ظروف دارای فضاهاى مجزا و عایق‌بندی شده به همراه یخ خشک و مواد پوششی مناسب بسته‌بندی و ارسال نمود. لازم به ذکر است فریز کردن بر توانایی کشف توکسین بوتولینوم نمونه‌ها تأثیری نداشته، اما بر توانایی کشف کلستریدیوم بوتولینوم مؤثر است. پس نمونه‌هایی که جهت کشف ارگانیسیم ارسال می‌گردند می‌بایست بدون هیچ گونه تاخیر و همچنین قبل از تجویز آنتی‌توکسین برداشت و ارسال شوند. قبل از ارسال نمونه‌ها به آزمایشگاه رفرانس کشوری (بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران) باید فرم ارسال نمونه‌ها در سه نسخه تکمیل و مورد یا موارد بیماری به صورت فوری و تلفنی به مرکز بهداشت شهرستان و از آنجا به استان و مرکز مدیریت بیماریها گزارش شوند.

آزمایشگاه بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران، نتایج آزمایش نمونه‌ها را در فرم Botulism test form به صورت نمابر به مرکز مدیریت بیماریها و معاونت بهداشتی مربوطه ارسال می‌نماید.